

Title	腎移植: Marginal 症例への対応 - 基礎研究からの今後の展望 (第58回日本泌尿器科学会中部総会(金沢))
Author(s)	市丸, 直嗣; 矢澤, 浩治; 高原, 史郎
Citation	泌尿器科紀要 (2010), 56(8): 481-484
Issue Date	2010-08
URL	http://hdl.handle.net/2433/123557
Right	許諾条件により本文は2011-09-01に公開
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

腎移植 : Marginal 症例への対応

—基礎研究からの今後の展望—

市丸 直嗣^{1,2}, 矢澤 浩治¹, 高原 史郎³

¹大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学講座 (泌尿器科), ²大阪中央病院泌尿器科

³大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学講座

KIDNEY TRANSPLANTATION : HOW SHALL WE DEAL WITH MARGINAL CASES ? —FUTURE PROSPECTS FROM BASIC RESEARCH—

Naotsugu ICHIMARU^{1,2}, Koji YAZAWA¹ and Shiro TAKAHARA³

¹*The Department of Specific Organ Regulation (Urology),
Osaka University Graduate School of Medicine*

²*The Department of Urology, Osaka Central Hospital*

³*The Department of Advanced Technology for Transplantation,
Osaka University Graduate School of Medicine*

The research performed at the Department of Urology Osaka University Graduate School of Medicine is overviewed. Renal ischemia-reperfusion (I/R) injury is inevitable in transplantation and is related to long-term graft function. MF-1, a bifunctional hepatocyte growth factor-macrophage stimulating protein chimera, was found to prevent apoptosis. In our study, MF-1 directly guarded cultured proximal tubular epithelial cells from hypoxia-induced necrosis and apoptosis in vitro, and MF-1 treatment ameliorated renal dysfunction by preventing apoptosis in rat I/R injury model. The erythropoietin molecule modified by carbamylation (CEPO) has been identified and was demonstrated to protect several organs without increasing the hemoglobin concentration. The therapeutic effect of CEPO was evaluated using an endothelial tube formation assay, and a rat ischemia-reperfusion injury model. CEPO treatment induced more capillary-like formation than EPO. CEPO-treated kidneys showed minimal tubular apoptosis with increased peritubular capillary endothelial cells. We identified a new therapeutic approach using CEPO to protect the kidney from ischemia-reperfusion injury by promoting angiogenesis.

(Hinyokika Kiyo 56 : 481-484, 2010)

Key words : Kidney transplantation, Hepatocyte growth factor, Carbamylated erythropoietin

緒 言

本邦における末期腎不全患者の治療は透析医療に偏っており、腎移植を希望するがその機会に恵まれない患者も多い。そのため腎移植の機会を増やすためにマージナル症例からあるいはマージナル症例への腎移植が近年増加している。これらのマージナル症例においても移植腎を長期に生着させる目的で、従来の手法に加えて種々の臓器保護が試みられている。

移植腎機能を保護するためには、急性・慢性拒絶反応に加えて、虚血再灌流障害・免疫抑制薬の薬物毒性・高血圧・糖尿病・原疾患再発・hyperfiltration などの様々な障害に総合的に対応する必要がある。種々の基礎研究が行われているが、大阪大学泌尿器科においてもこれらの障害の克服を目標に多面的な予防・治療法の開発を目指して基礎検討を行ってきた。当科で行ってきたこれまでの検討のうち肝細胞増殖因子

(hepatocyte growth factor: HGF) および Macrophage stimulating protein (MSP) と HGF のキメラ蛋白 (Metron Factor-1: MF-1) による移植腎保護、エリスロポエチン (erythropoietin: EPO) およびカルバミル化エリスロポエチン (carbamylated erythropoietin: CEPO) による腎虚血再灌流障害の改善について概説する。

HGF および MF-1

腎移植において、免疫抑制薬の開発およびその使用法の工夫により移植腎生着率は著しく向上して近年の5年生着率は約90%になっている。長期予後の改善が今後の課題であるが、そのためには急性拒絶反応だけでなく、免疫学的な慢性拒絶反応、シクロスポリンやタクロリムスによる薬剤性腎障害、腎移植時の虚血再灌流障害、腎不全となった原疾患の移植腎への再発、など様々な移植腎機能障害への対応を進める必要があ

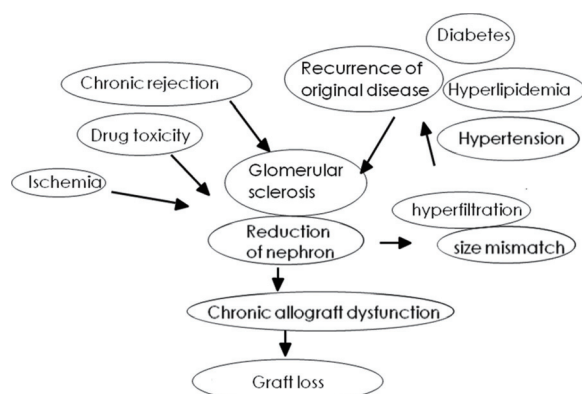


Fig. 1. Etiology of chronic allograft dysfunction.

る。移植内科医とも共同した糖尿病，高血圧，高脂血症などの全身管理も厳重に行う必要があり，多くの視点から慢性期の移植腎機能悪化への対策を講じるべきである (Fig. 1)。

慢性期の移植腎機能障害への対応には，このような多くの視点からの対策が必要であるが，大阪大学泌尿器科では多彩な臓器保護作用をもつ HGF に注目し，共同研究者と共にその移植腎保護作用の臨床応用の可能性について研究を続けてきた (Table 1)。HGF は，肝細胞に対する増殖因子として発見されたが，腎を含め様々な臓器の細胞に対して細胞増殖促進，運動促進，抗アポトーシス，血管新生などの強力な作用をもつことが知られている。臓器の再生と保護作用をもつ内因性因子である¹⁾。腎移植患者においては，急性拒絶反応時に血清 HGF 濃度が上昇していた²⁾。

HGF による移植腎保護の可能性を検討するために，まずタクロリムスのラット腎毒性モデルに対して HGF を筋肉内投与したところ，腎障害の軽減効果を認めた³⁾。次に，Fisher ラットをドナーとした Lewis ラットへの腎移植慢性モデルに対して，HGF の移植腎生着延長効果を検討した。この移植モデルはコントロール群において移植32週後の生存率は約50%であったが，移植後初期の4週間 HGF を投与した治療群の生存率は100%と劇的に改善した。HGF が移植後初期の虚血再灌流障害を軽減して組織壊死を抑えることにより，その後の単核球浸潤や炎症性サイトカインの誘

導が抑制され，慢性期の移植腎障害が防止できた⁴⁾。

この研究により HGF を移植後早期の一定期間投与するだけでその後の慢性期の移植腎機能障害を抑えることがわかり，当科で移植腎に対する HGF の効果についての研究をさらに進める大きな動機づけとなった。

その後，遺伝子導入を用いた HGF 投与についての研究を進めた。ラット 5/6 腎摘モデルにおいて前脛骨筋に electroporation (EP) 法にて HGF 遺伝子を導入し，発現した HGF により糸球体硬化や間質の線維化が改善することを確認した⁵⁾。

HGF には強力な細胞増殖作用や血管新生作用があり腎の再生あるいは保護作用をもつが，ガン細胞に対しても同様に作用する。一般に間質の線維芽細胞などとガン細胞では HGF などを介したガン-間質相互作用によりガン細胞の浸潤が促進される。またガン組織においては血管新生が促進される。また HGF を断片化して作成された NK4 は，HGF の競合アンタゴニストとして作用しガン細胞の浸潤を抑制することや血管新生を阻害することもわかってきた⁶⁾。HGF は人体に元から生理的に存在する内因性の増殖因子であるが，このような副作用を軽減するため HGF を標的臓器である移植腎に選択的に作用させ，全身への影響を避ける研究を進めた。まずラットのシクロスポリン腎毒性モデルを用いて，EP 法にて腎に HGF を遺伝子導入することに成功しその有効性を確認した⁷⁾。次にヒト腎移植への応用を目標にした前臨床試験として，ヒトと腎臓の大きさが同程度であるブタの自家腎移植モデルを用いて体外で (ex vivo) EP 法にて腎に遺伝子導入した。その結果，大動物においても実際に移植腎で HGF が発現して腎線維化抑制作用を示すこと，移植腎以外の他臓器では HGF の plasmid が PCR 法で検出されないことを確認し，有効性と安全性を確認した⁸⁾。

HGF と類似した作用をもつ MSP と HGF の2つを元にして合成された HGF-MSP キメラ蛋白：Metron Factor-1 (MF-1) は，HGF と同様に組織保護作用をもつが，HGF のようなガン細胞浸潤促進作用を持たない^{9,10)}。そこで腎虚血再灌流障害におけるこの MF-1 の効果を検討した。低酸素条件にした腎尿細管上皮細

Table 1. Summary of HGF research for kidney transplantation at Department of Urology Osaka University Graduate School of Medicine

Species	Experimental model	Methods of administration	Reference
Rat	Tacrolimus induced nephrotoxicity	Recombinant HGF	3
Rat	Fisher→Lewis kidney transplantation	Recombinant HGF	4
Rat	5/6 nephrectomy	in vivo EP (skeletal muscle)	5
Rat	Cyclosporine induced nephrotoxicity	in vivo EP (kidney)	7
Pig	Auto transplantation	ex vivo EP (kidney)	8
Rat	Ischemia reperfusion injury	MF-1	11

胞およびラット腎虚血再灌流障害モデルにおいて, MF-1 はアポトーシスを抑制することにより虚血からの保護作用を示した¹¹⁾. MF-1 は, HGF と同様な組織保護作用を持つが, HGF とは違いガン細胞浸潤促進などの不利益な作用を持たず, 移植腎に対するより安全な腎保護因子として有望な候補であると考えられた.

EPO および CEPO

EPO は赤血球系前駆細胞の生存, 分化, 増殖を促進するサイトカインだが, アポトーシス抑制作用を中心とした組織保護作用もあることが報告されている. その組織保護効果を期待し, 脳血管障害, 心血管障害, 腎疾患への臨床応用が期待されている. 当科での検討でも EPO 投与は hypoxia inducible factor-1 α を活性化することにより, ヒト近位尿管上皮細胞あるいは血管内皮細胞において低酸素条件で誘導した細胞障害を軽減した. またラット虚血再灌流障害は EPO 投与により軽減した¹²⁾.

EPO の大量長期投与は多血症など副作用が懸念される. 保存期腎不全患者においてエリスロポエチンによる腎性貧血の改善目標レベルをヘモグロビン値 13.5 g/dl と 11.3 g/dl に設定し比較した場合, 高く設定されたグループにおいて有意に死亡率や心不全の発症率が悪化したという大規模前向きコホート研究 (CHOIR 研究) が報告されている¹³⁾.

エリスロポエチン受容体にはホモダイマーとヘテロマーの 2 種類があることが報告されている^{14, 15)}. ホモダイマーはエリスロポエチン受容体が 2 量体を形成したものであり, 赤血球系前駆細胞の増殖促進作用に必要な受容体である. 一方ヘテロマーは β common 受容体とエリスロポエチン受容体から形成され, この受容体を介した場合は造血作用を認めずアポトーシス抑制を中心とした組織保護作用のみ認められる. EPO の糖鎖は通常シアル化されているが, そのうちリシン側鎖をカルバミル化したものが CEPO である. CEPO は 2 種類のエリスロポエチン受容体のうちヘテロマーにのみ結合するため造血作用がなく組織保護作用のみ有する. そのため CEPO を投与した場合, 組織保護・血管新生作用を示すが, 多血症などの副作用は軽減される.

当科での検討ではラット虚血再灌流障害モデルに対して, CEPO 投与は造血作用を示すことなく腎保護作用を示した¹⁶⁾. また CEPO は虚血再灌流障害に対して, 血管新生を促進することにより腎保護作用をもつことを示した¹⁷⁾. ラット尿管結紮 (unilateral ureteral obstruction) モデルにおいても CEPO が尿管間質障害からの保護効果をもつことが示されている¹⁸⁾.

CEPO は赤血球増加作用を持たずに組織保護作用をもつため, 多血症の副作用を危惧せずに腎障害に対して投与可能である. 移植腎保護においても有望であるが, CEPO は自然には存在しない合成化合物でありヒトへの臨床応用にあたっては十分な安全性試験が要求される.

結 語

移植腎障害の原因は多岐にわたり, 現在の臨床の場では様々な予防・治療が行われているが十分ではない. 今後マージナル症例の腎移植を推進する際には, より有効な新規の多面的な方策が求められている.

文 献

- 1) Matsumoto K and Nakamura T: Hepatocyte growth factor: renotropic role and potential therapeutics for renal diseases. *Kidney Int* **59**: 2023-2038, 2001
- 2) Takada S, Namiki M, Takahara S, et al.: Serum HGF levels in acute renal rejection after living related renal transplantation. *Transpl Int* **9**: 151-154, 1996
- 3) Takada S, Takahara S, Nishimura K, et al.: Effect of hepatocyte growth factor on tacrolimus-induced nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats. *Transpl Int* **12**: 27-32, 1999
- 4) Azuma H, Takahara S, Matsumoto K, et al.: Hepatocyte growth factor prevents the development of chronic allograft nephropathy in rats. *J Am Soc Nephrol* **12**: 1280-1292, 2001
- 5) Tanaka T, Ichimaru N, Takahara S, et al.: In vivo gene transfer of hepatocyte growth factor to skeletal muscle prevents changes in rat kidneys after 5/6 nephrectomy. *Am J Transplant* **2**: 828-836, 2002
- 6) Matsumoto K and Nakamura T: NK4 (HGF-antagonist/angiogenesis inhibitor) in cancer biology and therapeutics. *Cancer Sci* **94**: 321-327, 2003
- 7) Yazawa K, Isaka Y, Takahara S, et al.: Direct transfer of hepatocyte growth factor gene into kidney suppresses cyclosporin A nephrotoxicity in rats. *Nephrol Dial Transplant* **19**: 812-816, 2004
- 8) Isaka Y, Yamada K, Takabatake Y, et al.: Electroporation-mediated HGF gene transfection protected the kidney against graft injury. *Gene Ther* **12**: 815-820, 2005
- 9) Michieli P, Cavassa S, Basilico C, et al.: An HGF-MSP chimera disassociates the trophic properties of scatter factors from their pro-invasive activity. *Nat Biotechnol* **20**: 488-495, 2002
- 10) Takahara T, Xue F, Mazzone M, et al.: Metron factor-1 prevents liver injury without promoting tumor growth and metastasis. *Hepatology* **47**: 2010-2025, 2008
- 11) Xue F, Isaka Y, Takahara T, et al.: HGF-MSP chimera protects kidneys from ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun* **363**:

- 451-456, 2007
- 12) Imamura R, Moriyama T, Isaka Y, et al.: Erythropoietin protects the kidneys against ischemia reperfusion injury by activating hypoxia inducible factor-1alpha. *Transplantation* **83**: 1371-1379, 2007
- 13) Singh AK, Szczech L, Tang KL, et al.: Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N Engl J Med* **355**: 2085-2098, 2006
- 14) Brines M, Grasso G, Fiordaliso F, et al.: Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**: 14907-14912, 2004
- 15) Leist M, Ghezzi P, Grasso G, et al.: Derivatives of erythropoietin that are tissue protective but not erythropoietic. *Science* **305**: 239-242, 2004
- 16) Imamura R, Isaka Y, Ichimaru N, et al.: Carbamylated erythropoietin protects the kidneys from ischemia-reperfusion injury without stimulating erythropoiesis. *Biochem Biophys Res Commun* **353**: 786-792, 2007
- 17) Imamura R, Okumi M, Isaka Y, et al.: Carbamylated erythropoietin improves angiogenesis and protects the kidneys from ischemia-reperfusion injury. *Cell Transplant* **17**: 135-141, 2008
- 18) Kitamura H, Isaka Y, Takabatake Y, et al.: Nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects against tubulointerstitial injury in a unilateral ureteral obstruction model. *Nephrol Dial Transplant* **23**: 1521-1528, 2008

(Received on April 19, 2010)
(Accepted on May 6, 2010)